

Abstract

Polarity proteins mediate important processes of cellular polarization during development and in tissue homeostasis. They are conserved among many model organisms. Although polarity proteins as well function on their own, they cluster together in so called polarity complexes. Well studied complexes are the Par, the Scribble and the Crumbs complex. The Par complex consists of the scaffold proteins partitioning-defective 3 (Par3) and partitioning-defective 6 (Par6) and the atypical protein kinase C (aPKC). In the skin, as an example of a stratified epithelium integrating many different cell types, the role of polarity signalling is so far not completely understood. Par3 and aPKC in keratinocytes were shown to mediate the maintenance of the balance between stemness and differentiation. In the tumor context, Par3 signalling in keratinocytes regulated tumorigenic outgrowth dependent on the type of skin cancer. Interestingly, loss of Par3 in the epidermis induced as well melanoma outgrowth.

The aim of this study was to understand how epidermal polarity signalling was able to mediate melanocyte transformation leading to the establishment of melanoma. Further, it was aimed to understand whether and how members of the classical polarity complex are regulating MC homeostasis and function.

In the first part of this study, in an autochthonous melanoma mouse model Par3 deletion in the epidermis was found to induce melanoma multiplicity and metastasis. The analysis of *in vitro* cultures of Par3 knock-out keratinocytes cocultured with melanocytes and *in vivo* analysis of mice harboring an epidermal Par3 deletion identified melanocyte hyperproliferation. Further, Par3 deletion increased the surface levels of P-Cadherin on keratinocytes. Thus, the altered intercellular keratinocyte-melanocyte communication promoted melanocyte transformation. Subsequently, Par3 could be identified to act in the microenvironment as a tumor suppressor of melanoma.

To understand how intrinsic polarity signalling affects melanocytes, in the second part of the study a mouse model with Par3 deletion in melanocytes was analyzed. Par3 was found to promote differentiation and pigmentation in melanocytes located in the interfollicular epidermis. There, downstream of the prominent α -MSH/MC1R pathway and upstream of MITF, Par3 regulates melanin synthesis and thereby skin pigmentation.

In conclusion, this study unravels previously unknown functions of epidermal polarity proteins in melanocyte homeostasis and melanoma progression. Further this study uncovers cell specific functions of how polarity proteins regulate skin homeostasis: Unlike in keratinocytes, where polarity signalling prevents premature differentiation, in melanocytes it rather promotes differentiation and induces pigmentation.

Zusammenfassung

Die Funktion von Polaritätsproteinen ist entscheidend in der Entwicklung und Homöostase von Organismen. Die hoch konservierten Polaritätsproteine treten zumeist in Komplexen auf. Sehr bekannt sind die Proteine der Par, Scribble und Crumbs Komplexe. Folgende Proteine bilden den Par Komplex: partitioning-defective 3 (Par3), partitioning-defective 6 (Par6), und atypical protein kinase C (aPKC).

In einfachen Epithelien wurden die einzelnen Funktionen der Polaritätskomplexe bereits eingehend erforscht, nicht so jedoch in der Haut, gern genutztes Beispiel eines vielschichtigen Epithels. Wie Polarität Funktion und Regenerierung der Haut, die viele verschiedene Zelltypen enthält, bestimmt, ist bislang nicht vollständig bekannt. In Keratinozyten, die den größten zellulären Anteil der Epidermis ausmachen, wurden zuletzt Par3 und aPKC als Mediatoren zwischen Stammzellerhalt und Differenzierung identifiziert. Bezüglich der Rolle in der Entwicklung von Hautkrebs konnte Par3, abhängig vom Tumortyp entweder Funktionen als Tumorsuppressor oder -promotor zugeordnet werden. Interessanterweise wurden nach epidermale Verlust von Par3 zudem erhöhtes Auftreten vom Melanom (einem nicht-epithelialen Hautkrebs, entstehend aus transformierten Melanozyten) beobachtet.

Ziel dieser Studie war es zu verstehen, wie die Veränderung von epidermaler Polarität Einfluss auf die Melanombildung nehmen konnte. Des Weiteren sollte erforscht werden, wie intrazelluläre Polarität die Homöostase von Melanozyten beeinflussen kann.

Im ersten Teil der Arbeit wurde nach Deletion von Par3 in einem murinen autochthonen Melanommodell erhöhte Melanombildung und Lungenmetastasierung beobachtet. Die direkte Nachbarschaft von Par3-deletierten Keratinozyten stimulierte die Proliferation und Dedifferenzierung von Melanozyten *in vivo* und *in vitro*. Der Verlust von Par3 erhöhte die Oberflächenexpression von P-cadherin in den Keratinozyten. Daraus resultierende Veränderungen der interzellulären Kommunikation zwischen Keratinozyten und Melanozyten förderte die maligne Transformation von Melanozyten. Somit konnte Par3 als Suppressor von Melanombildung in der Mikroumgebung des entstehenden Melanoms klassifiziert werden.

Um die intrazellulären Funktionen von Polaritätsproteinen in Melanozyten zu verstehen, wurde im zweiten Teil der Arbeit ein Mausmodell mit Verlust von Par3 in der Melanozytenlinie generiert. Par3-Verlust in interfollikulären Melanozyten hatte die Reduzierung von Melanozytenpigmentierung und allumfassende Hypopigmentierung der Haut zur Folge. Par3-induzierte Pigmentierung und Differenzierung innerhalb des prominenten α -MSH/MC1R Signalwegs durch Aktivierung des Transkriptionsfaktors MITF wurde in dieser Studie aufgezeigt.

Zusammenfassend hat diese Arbeit zuvor unbekannte Funktionen von Polaritätsproteinen in der Melanozytenhomöostase und in der Bildung des malignen Melanoms identifiziert. Des

weiteren wurden zelltypspezifische Unterschiede bezüglich der Regulation von Differenzierung durch das Polaritätsprotein Par3 aufgedeckt.